

Method of preparing a sample for analysis

Patent Number: ☐ US5308978
Publication date: 1994-05-03
Inventor(s): COTTRELL JOHN S (US); MOCK KULDIP K (US)
Applicant(s):: FINNIGAN MAT LTD (GB)
Requested Patent: ☐ WO9103068
Application Number: US19920835969 19920220
Priority Number(s): GB19890019191 19890823; WO1990GB00973 19900625
IPC Classification: H01J49/04
EC Classification:
Equivalents: DE69024810D, DE69024810T, ☐ EP0489020 (WO9103068), B1, ☐ GB2235528, JP2571159B2, JP5503350T

Abstract

PCT No. PCT/GB90/00973 Sec. 371 Date Feb. 20, 1992 Sec. 102(e) Date Feb. 20, 1992 PCT Filed Jun. 25, 1990 PCT Pub. No. WO91/03068 PCT Pub. Date Mar. 7, 1991. A sample for analysis by Laser Desorption Mass Spectrometry is prepared by dissolving the sample material in a solvent and applying the solution to a matrix material. The matrix material is applied to a target for a mass spectrometer prior to the application of the sample solution thereto.

Data supplied from the esp@cenet database - I2

①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

①2 Übersetzung der
europäischen Patentschrift

②7 EP 0 489 020 B1

①0 DE 690 24 810 T 2

⑤1 Int. Cl.⁶:
H 01 J 49/16
G 01 N 1/28

②1 Deutsches Aktenzeichen:	690 24 810.5
②6 PCT-Aktenzeichen:	PCT/GB90/00973
②6 Europäisches Aktenzeichen:	90 909 762.8
②7 PCT-Veröffentlichungs-Nr.:	WO 91/03068
②6 PCT-Anmeldetag:	25. 6. 90
②7 Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung:	7. 3. 91
②7 Erstveröffentlichung durch das EPA:	10. 6. 92
②7 Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA:	10. 1. 96
④7 Veröffentlichungstag im Patentblatt:	4. 7. 96

③0 Unionspriorität: ③2 ③3 ③1

23.08.89 GB 8919191

⑦3 Patentinhaber:

Thermo BioAnalysis Ltd., Hemel Hempstead,
Hertfordshire, GB

⑦4 Vertreter:

Glawe, Delfs, Moll & Partner, Patentanwälte, 80538
München

⑧4 Benannte Vertragsstaaten:

CH, DE, FR, LI, SE

⑦2 Erfinder:

COTTRELL, John, Stanley, London N6 5PS, GB;
MOCK, Kuldip, Kaur, St. Albans Hertfordshire AL2
3DU, GB

⑤4 VERFAHREN ZUR VORBEREITUNG EINER PROBE FÜR ANALYSE

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II 5 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wird vom Deutschen Patentamt inhaltlich nicht geprüft.

DE 690 24 810 T 2

DE 690 24 810 T 2

Verfahren zur Zubereitung einer Probe für die Analyse mittels Laserdesorptions-Massenspektrometrie

Diese Erfindung betrifft ein Verfahren zur Zubereitung einer Probe für eine Analyse, und insbesondere einer Probe für die Analyse mittels Laserdesorptions-Massenspektrometrie (LDMS = Laser Desorption Mass Spectrometry), bei der aus einer Probenoberfläche in kondensierter Phase durch Beschuß mit Photonen Ionen herausgeschlagen und dann einer Massenspektroskopie unterzogen werden.

Es sind viele LDMS-Verfahren bekannt, und ein gemeinsames Merkmal von vielen besteht in der Verwendung eines Matrixmaterials, in das der Analyt (das zu analysierende Probenmaterial) eingebettet ist. Das Matrixmaterial kann eine Aufgabe oder auch mehrere Aufgaben erfüllen. Es kann zum Beispiel als Vermittler bei der Übertragung der Energie aus dem Photonenbeschuß auf die Moleküle des Probenmaterials dienen; es kann eine physikalische und chemische Umgebung bereitstellen, welche die Desorptionswahrscheinlichkeit in den gewünschten Ladungs- und Aggregatzustand erhöht; es kann durch Verdampfen von Matrixmaterialmolekülen aus dem desorbierten Probenmaterialcluster und von Matrixmaterialionen die überschüssige Energie von der desorbierten Stoffart fernhalten; und es kann bei der Abtrennung und Reinigung des Probenmaterials helfen.

Es wurden vier Verfahren für den Einsatz von Matrixmaterial zur Verbesserung der LDMS beschrieben, wie im folgenden ausgeführt wird.

Das erste Verfahren besteht darin, das Probenmaterial zusammen mit einem 10:1-Überschuß eines organischen Salzes in einem Lösungsmittel aufzulösen, einen Tropfen der Lösung auf die Targetoberfläche aufzubringen und bis zur völligen Trockenheit einzudampfen, wie von D.V. Davis u.a. in Analytical Chemistry, 55 130 (1983) beschrieben wird. Die Probenmaterialablagerung wird dann mit Infrarotphotonen aus einem Neodym-YAG-Impulslaser bestrahlt.

Das zweite Verfahren besteht darin, äquimolare Mengen des Probenmaterials und eines organischen Salzes in einem Glycerintröpfchen zu mischen, das sich auf der Targetoberfläche befindet, wie von L.G. Wright u.a. in Biomedical Mass Spectrometry, 12 159 (1985) beschrieben wird. Die Probenmischung wird dann mit Infrarotphotonen aus einem kontinuierlich arbeitenden Kohlendioxidlaser bestrahlt.

Als drittes Verfahren wird in der Japanese Patent Specification JP62-43562 ein Verfahren zur Probenzubereitung beschrieben, bei dem eine Lösung des Probenmaterials mit einer Aufschwemmung von feinem Kobaltpulver in Glycerin gemischt wird. Ein Tropfen der Mischung wird dann mit ultravioletten Photonen aus einem Stickstoff-Impulslaser bestrahlt.

Als viertes Verfahren beschreiben M. Karas u.a. (Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes, 78 53 (1987)) die Verwendung eines großen molaren Überschusses von Matrixmaterial, welches auf der Wellenlänge der auftreffenden Strahlung stark absorbiert. Das Probenmaterial wird zum Beispiel in eine Lösung gebracht, die den tausendfachen molaren Überschuß an Nikotinsäure enthält. Ein Tropfen der Lösung wird auf die Targetoberfläche aufgebracht, bis zur Trockenheit eingedampft und mit ultravioletten Photonen der Wellenlänge 266 nm aus einem frequenzvervierfachen Neodym-YAG-Impulslaser bestrahlt. Die Verwendung von Matrixmaterial, welches die

auftreffenden Photonen stark absorbiert, stellt einen wichtigen Unterschied zwischen dieser Methode und den drei vorher beschriebenen dar, da sie den Einsatz geringer Leistungsdichten gestattet, was die Wahrscheinlichkeit für das Desorbieren intakter Moleküle erhöht.

Gemäß der Erfindung ist ein Verfahren zur Zubereitung einer Probe für eine Analyse mittels Laserdesorptions-Massenspektrometrie vorgesehen, durch Auflösen des Probenmaterials in einem Lösungsmittel und Aufbringen der Lösung auf ein Matrixmaterial, wobei das Matrixmaterial in dem Lösungsmittel, in welchem das Probenmaterial aufgelöst wurde, mindestens teilweise löslich ist, und wobei das Matrixmaterial vor dem Aufbringen der Probenlösung auf das Massenspektrometertarget aufgebracht wird.

Die Erfindung liefert ein einfach und ökonomisch durchführbares Verfahren, das insbesondere dann einsetzbar ist, wenn die für die Analyse zur Verfügung stehende Probenmaterialmenge sehr beschränkt ist, da es schwierig sein kann, eine kleine Menge Probenmateriallösung und eine kleine Menge Matrixmateriallösung auf einem Target miteinander zu mischen.

Da das Matrixmaterial mindestens teilweise in dem Lösungsmittel löslich ist, in dem das Probenmaterial aufgelöst wird, löst sich ein Teil oder das gesamte Matrixmaterial, das auf dem Target abgeschieden ist, in der aufgetragenen Probenmateriallösung auf. Dieses Verfahren ist besonders vorteilhaft, wenn das Matrixmaterial durch ein Verfahren wie z.B. Elektrosprühen auf das Target aufgebracht wird, welches eine Matrixmaterialablagerung mit sehr großer Oberfläche ergibt. Das Matrixmaterial kann aber, auch durch Aerosolsprühen, Schleudergießen oder Aufdampfen auf das Target aufgebracht werden.

Es ist jedoch nicht erforderlich, ein Lösungsmittel zu verwenden, bei welchem sowohl das Proben- als auch das Matrixmaterial einen spezifischen Löslichkeitsgrad aufweisen.

Das Matrixmaterial besitzt vorzugsweise einen hohen Absorptionskoeffizienten für die bei der Massenspektroskopie verwendeten Beschußphotonen.

Als ein Beispiel soll die Erfindung nun an Hand der Zeichnung beschrieben werden, in der ein Verfahren für die Zubereitung einer Probe entsprechend der Erfindung veranschaulicht wird.

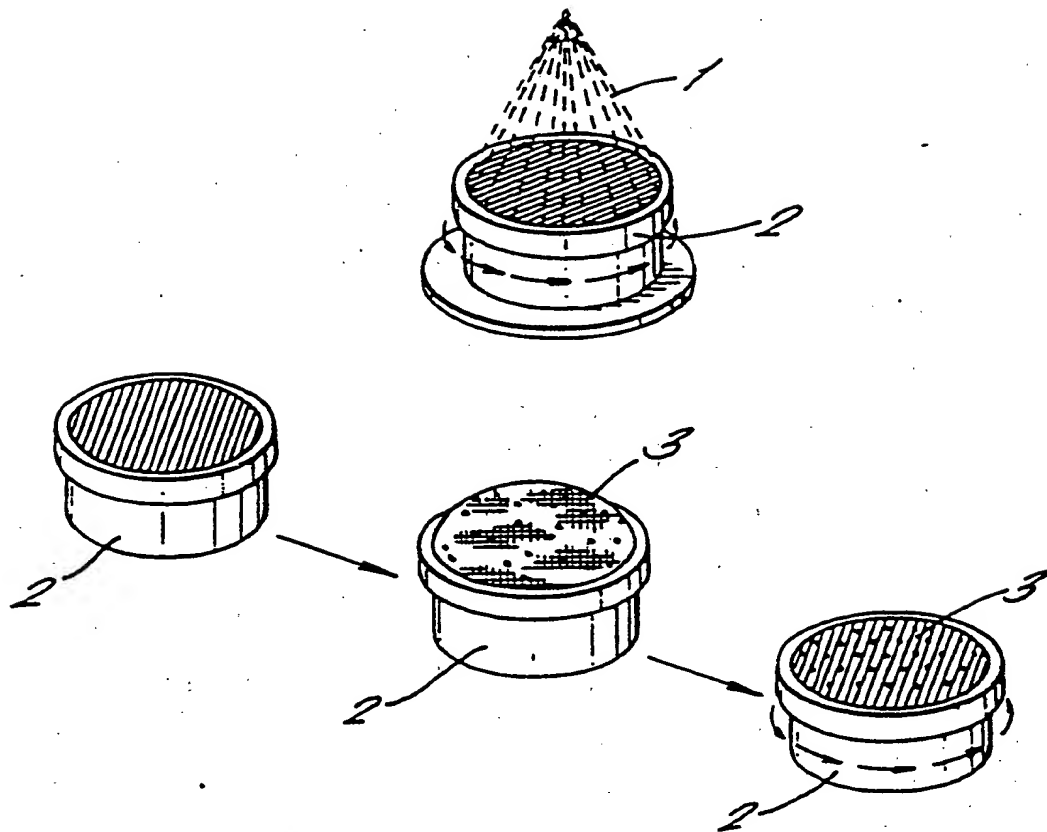
Entsprechend der Zeichnung wird das Matrixmaterial 1, welches teilweise in dem Lösungsmittel, z.B. Nikotinsäure, löslich ist, in dem das Probenmaterial für die Analyse, in diesem Fall ein Peptid, gelöst ist, in bekannter Weise mittels Elektrosprühen auf den Zentralbereich des rotierenden Targethalters 2 des Massenspektrometers aufgebracht. Es kann eine Maske verwendet werden, um sicherzustellen, daß das Matrixmaterial 1 auf eine exakt definierte Fläche bekannten Durchmessers begrenzt wird. Die Elektrosprühtechnologie wird umfassend von C.J. McNeal u.a. in Analytical Chemistry, 51 2036 (1979) beschrieben. Ein Tropfen der Probenmateriallösung 3, zum Beispiel einer 10^{-5} molaren Lösung eines Peptids in 0,1%-iger wässriger Trifluoressigsäure, wird auf das Target 2 so aufgebracht, daß er die Matrixmaterialablagerung bedeckt und trocknen kann.

Das beschickte Target 2 kann dann in die Untersuchungskammer eines Massenspektrometers eingeführt werden, um in bekannter Weise das Probenmaterial mittel Beschuß mit Photonen der Wellenlänge 266 nm aus einem frequenzvervierfachen Neodym-YAG-Laser zu analysieren.

Patentanspruch

1. Verfahren zur Zubereitung einer Probe für die Analyse mittels Laserdesorptions-Massenspektrometrie, durch Auflösen des Probenmaterials in einem Lösungsmittel und Aufbringen der Lösung auf ein Matrixmaterial, wobei das Matrixmaterial in dem Lösungsmittel, in dem das Probenmaterial gelöst ist, mindestens teilweise lösbar ist und wobei das Matrixmaterial auf ein Target für ein Massenspektrometer aufgebracht wird, bevor die Probenlösung auf es aufgebracht wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem das Matrixmaterial eine hohe Absorption für den für die Massenspektrometrie verwendeten Photonenbeschuß aufweist.
3. Verfahren nach einem der vorangehenden Ansprüche, bei dem das Matrixmaterial durch Elektrosprühen auf das Target aufgebracht wird.

1/1



THIS PAGE BLANK (USPTO)